

# Resistencia antimicrobiana

Los agentes antimicrobianos modificados y las intervenciones de salud pública junto con nuevas estrategias antimicrobianas pueden ayudar a mitigar el efecto de los organismos multirresistentes

Autor: Hilary D. Marston, Dennis M. Dixon, M. Knisely, Tara N. Palmore, Anthony S. Fauci. *JAMA* September 20, 2016 Volume 316, Number 11.

## Página 1

Los antibióticos han revolucionado la práctica de la medicina lo que permite avances en todo el espectro de la medicina clínica, incluyendo la mayor seguridad de los partos, procedimientos quirúrgicos, trasplante de órganos y regímenes de quimioterapia miel ablativa. Sin embargo, la resistencia a los antimicrobianos (RAM) amenaza con obstaculizar e incluso revertir algunos de estos avances. La RAM es responsable de un sin número de muertes y elevados costos económicos. El efecto de la RAM en muchos países puede ser calculado pero su efecto global es difícil de cuantificar, ya que los datos epidemiológicos son escasos en muchas áreas del mundo.

Sin embargo, los datos conocidos representan una preocupación considerable. En este sentido, la reciente aparición de factores de resistencia global que emanan de EE. UU. (*Klebsiella pneumoniae* resistente al carbapenem), India (bacterias con el gen bla<sub>NDM-1</sub> mediado por plásmido que confiere resistencia a los carbapenems) y en otros lugares (el gen mcr-1 de *E. coli* mediado por plásmidos que confiere resistencia a la colistina, descrito originalmente en China) demuestra la naturaleza generalizada del problema y la importancia de mejorar la vigilancia mundial. La importancia de la RAM para la salud humana es clara. En esta Comunicación Especial los autores revisan los factores asociados a la RAM (y los esfuerzos para mitigarla), sus mecanismos de influencia en la práctica clínica y la respuesta de las investigaciones biomédicas a este desafío.

La resistencia a los antimicrobianos (RAM) es responsable de un sin número de muertes y elevados costos económicos.

### ► Objetivo

Identificar los factores asociados a la RAM, la epidemiología actual de los organismos resistentes importantes y las posibles soluciones al problema.

### ► Fuentes de datos, selección de estudios y datos de síntesis

Se consultaron PubMed (2000-2016), NIH Reporter y la base de datos de ClinicalTrials.gov para buscar artículos y entradas relacionadas con RAM, centrándose en la epidemiología, los efectos clínicos de la RAM, el descubrimiento de fármacos nuevos para el tratamiento de las infecciones bacterianas resistentes a los antimicrobianos y estrategias no farmacológicas para eliminar o modificar las bacterias con RAM. Además de los artículos y entradas hallados, se revisaron los informes seleccionados de políticas de salud, y los informes y documentos de las guías para la salud pública. De 217 artículos, bases de datos e informes identificados, 103 fueron seleccionados para su revisión.

### ► Resultados

EL incremento de la RAM ha sido impulsado por un conjunto diverso de factores, incluyendo la prescripción y venta inapropiada de antibióticos, el uso de antibióticos fuera del sector de salud y factores genéticos intrínsecos de las bacterias. El problema se ha agravado con la escasez de incentivos económicos para el desarrollo de nuevos productos farmacéuticos. Una serie de preocupaciones sobre la RAM específica, incluyendo los organismos gran-negativos resistentes al carbapenem y la colistina, representan un desafío clínico. Los enfoques alternativos para enfrentar el tratamiento de la RAM son los métodos de identificación del fármaco antibacteriano y las estrategias que neutralizan los factores de virulencia.

### ► Factores asociados a la RAM y respuestas clave

#### Estrategias

Para abordar adecuadamente la amenaza planteada por la RAM es importante comprender los factores que impulsan su aparición. Por ejemplo, los ciclos de replicación bacteriana permiten la aparición de mutaciones de novo: Una sola bacteria *S. aureus* puede replicar a través de 10 generaciones en menos de 12 horas, dando lugar a 1 millón de descendientes. Cada ciclo de replicación ofrece la oportunidad para la mutación, lo que permite la aparición de factores genéticos que contribuyen a la RAM. Aunque hoy en día las mutaciones de novo pueden causar problemas nuevos, hay factores de resistencia que ocurren naturalmente y parecen preceder a la era de los antibióticos.

Las muestras de permafrost del Yukón han mostrado la presencia de bacterias con mutaciones de resistencia que datan de 30.000 años antes del descubrimiento de los factores de resistencia a la penicilina. También se han identificado factores de resistencia en las muestras extraídas de un ecosistema de cuevas que estuvo aislado durante más de 4 millones de años. Por otra parte, el análisis filogenético de las  $\beta$  lactamasas (enzimas que toman ineficaces a los antibióticos similar penicilina) indica que ya existían hace 1 mil millones a 2 mil millones de años.

Aunque los factores de resistencia que ocurren naturalmente contribuyen a la RAM, el uso de antibióticos favorece la selección y su aparición; Por lo tanto, la actividad humana representa un papel importante en la evolución de la RAM, por ejemplo, el uso agrícola de

antibióticos para promover el crecimiento de los animales. En EE. UU., el uso de antibióticos en los animales para su alimentación representa el 80% de todos los antibióticos consumidos. La Food and Drug Administration (FDA) estima que el 74% de estos antibióticos se administra con el alimento, un método habitual para promover el crecimiento del animal y no para tratar o prevenir la infección. Por otra parte, en EE. UU. el 62% de los antibióticos usados en animales está representado por compuestos "de importancia médica", es decir, son importantes para el tratamiento de las enfermedades humanas. Los antibióticos utilizados en el 38% restante pueden influir en la salud humana. Por ejemplo, la bacitracina comúnmente se utiliza en los seres humanos por vía tópica y no se administra en forma sistémica como se hace en los animales. A pesar de que la influencia directa de este tipo de prácticas en la salud humana es difícil de cuantificar, los informes sobre la transmisión de bacterias resistentes por el contacto entre animales y seres humanos, y el consumo de productos animales, continúa produciendo.

Por otra parte, se ha demostrado una asociación entre el consumo de antibióticos por los animales y la existencia de organismos comensales resistentes a las mismas clases de antibióticos en los seres humanos. También hay informes de patógenos resistentes a los antibióticos que pasan de los seres humanos a los animales. La influencia potencial del uso agrícola de antibióticos en la salud humana ha dado lugar a una serie de respuestas, como las políticas en Europa que prohíben la utilización de los antibióticos para el crecimiento de los animales, las guías de la FDA que fomentan evitar el uso de antibióticos y el suministro voluntario de carne libre de antibióticos por los proveedores de alimentos. Por otra parte, recientemente la FDA publicó su *Final Rule on Antimicrobial Animal Drug Sales and Distribution Reporting*, donde requiere que los productores de medicamentos veterinarios con actividad antimicrobiana envíen informes anuales sobre la cantidad que se vende, para mejorar la transparencia de su uso.

El uso de antibióticos en los seres humanos también contribuye a la aparición de RAM. Con un gran esfuerzo se ha abordado el uso inapropiado de los antibióticos en los hospitales, que incluye la aplicación de programas para el manejo de los antibióticos. Estos programas incluyen la colaboración entre los especialistas en enfermedades infecciosas y los farmacéuticos capacitados para la administración de antimicrobianos, apoyados por expertos en el manejo de antibióticos. Los programas buscan optimizar la selección de antibióticos y reducir el uso inadecuado de los antibióticos de amplio espectro. (lo que influye en la presión selectiva sobre las bacterias y promueve la aparición de RAM).

En general, los programas de administración de antibióticos están facultados para que las autoridades hospitalarias restrinjan los formularios y requieran la autorización previa de los antimicrobianos restringidos, o exijan auditorías de recetas teniendo en cuenta los antecedentes prescriptivos de quienes indican los antibióticos. Aunque la aplicación de los programas para la administración de antimicrobianos en el hospital ha sido hasta ahora limitada, recientemente la Joint Commission (el organismo de acreditación primaria para los hospitales) aprobó una norma para la administración de antimicrobianos estándar en los servicios de atención de la salud, que puede fomentar su uso.

Aunque los estudios y programas individuales han demostrado la importancia potencial de la administración de antimicrobianos en los hospitales, la implementación y aceptación limitada sigue obstaculizando un cambio sostenible. Sin embargo, el uso de antibióticos para los pacientes hospitalizados representa solo el 38,5% del total de los antibióticos vendidos. Un análisis reciente reveló que el 12,6% de las consultas ambulatorias en EE. UU. resultó en la prescripción de un antibiótico, y el 30% de esas recetas pudo haber sido inapropiado. La venta directa al consumidor agrava el problema del uso inadecuado en muchas áreas del mundo. Fuera de EE. UU. y Europa, tales compras representan casi un quinto de todo el uso de antibióticos, dependiendo del lugar. En todo el mundo, los antibióticos dispensados directamente al consumidor son más propensos a ser seleccionados en forma inapropiada, tomados en dosis inferiores a los estándares de atención, o ambos. Todos estos factores contribuyen a la aparición de RAM.

En países como Bélgica y Francia, las campañas de educación pública han tenido una influencia positiva en la prescripción inadecuada. Por ejemplo, una campaña nacional de medios de comunicación en Bélgica coincidió con una reducción del 36% en las prescripciones de antibióticos durante 7 años (aunque es probable que también hayan contribuido otros factores). En otros países incluyendo EE. UU. se han puesto en marcha campañas de educación como Centers for Disease Control and Prevention's [CDC's] "Get Smart About Antibiotics Week" (Alerta sobre los antibióticos semanales de los CDC) o el Medicines With the Red Line, en India.

Es importante destacar que estos programas todavía son relativamente nuevos y no hay pruebas concluyentes sobre su eficacia. Los esfuerzos dirigidos a los médicos de atención primaria también pueden cambiar la práctica: un ensayo clínico aleatorizado reciente de intervenciones conductuales (por ej., listas para comparar los niveles de prescripción inadecuada entre pares) demostró disminuciones estadísticamente significativas en la prescripción inapropiada. Del mismo modo, un grupo de estudios aleatorizados en los que los investigadores ofrecieron un módulo educativo y de retroalimentación personalizada, diseñado para reducir las recetas de antibióticos de amplio espectro para las infecciones de las vías respiratorias agudas en niños, los sitios de intervención demostraron una disminución del 12,5% en las recetas de esos fármacos versus un descenso del 5,8% en el grupo control.

Mientras que el comportamiento humano contribuye a la RAM, otro esfuerzo humano —la innovación en la investigación—proporciona un medio para responder, por ejemplo, con el desarrollo de nuevos antibióticos. El ritmo al que se han introducido antibióticos nuevos ha disminuido considerablemente. Por ejemplo, entre 1983 y 1987, la FDA aprobó 16 antibióticos mientras que solo 2 fueron aprobados entre 2008 y 2012 y, desde fines de 2012 se aprobó un total de 5 antimicrobianos nuevos. Esta desaceleración no es exclusiva de los antibióticos; también se han observado tendencias similares para los medicamentos cardiovasculares y otros agentes. Sin embargo, ciertas características del mercado de los antibióticos probablemente dificultan la inversión de la industria farmacéutica para el desarrollo de medicamentos nuevos.

La duración limitada del tratamiento, los precios relativamente bajos por dosis, el potencial para la rápida aparición de resistencia (lo que resulta en una permanencia incierta en el mercado), y las disposiciones para la administración de antimicrobianos que limitan el acceso a los nuevos compuestos pueden reducir las perspectivas de ingresos de los agentes antimicrobianos nuevos. Los ensayos clínicos de candidatos terapéuticos nuevos para las infecciones resistentes a los medicamentos plantean sus propios desafíos; por ejemplo, la incidencia de infecciones esporádicas y la probabilidad de la exposición previa a los antibióticos en los hospitales complican su inscripción en los ensayos clínicos.

El desarrollo de antibióticos para las infecciones por bacterias gram-negativas es particularmente difícil debido a la baja

permeabilidad de la pared celular de las bacterias gram-negativas, la variedad de bombas de eflujo (que activan el transporte de medicamentos fuera de la célula) y una serie de enzimas capaces de activar a todos los medicamentos  $\beta$ -lactámicos conocidos (por ej., penicilinas y cefalosporinas).

Las intervenciones políticas ofrecen una estrategia importante para fomentar el desarrollo de fármacos. Por ejemplo, en EE. UU., desde 2010 se han aprobado 6 fármacos antibacterianos nuevos bajo la ley "Incentivos actuales para la generación de antibióticos", que subsidia la patente de exclusividad extendida y revisión de la regulación acelerada para la calificación de los compuestos. Desde marzo de 2016 se están desarrollando clínicamente distintos medicamentos antibacterianos sistémicos para las infecciones bacterianas (con exclusión de las micobacterianas).

Sin embargo, los autores destacan que los fármacos candidatos para las infecciones gram-negativas son escasos lo que deja un vacío mayor en la discusión política. Por ejemplo, mientras se están identificando varios factores de resistencia nuevos de los gram-negativos, los fármacos con actividad contra una o más patógenos gram-negativos ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, y especies de Enterobacter) representan solo un tercio de los antibióticos en desarrollo clínico.

Si bien es muy necesario contar con opciones de antibióticos nuevas, también hay otros enfoques que tienen un papel importante. Tanto el uso cauteloso y preciso como el acortamiento de la duración del tratamiento, pueden reducir el uso de antimicrobianos y el desarrollo de RAM. Del mismo modo, las intervenciones de salud pública, tales como el acceso a agua limpia y el saneamiento y control de las infecciones hospitalarias demostraron que pueden prevenir las infecciones bacterianas y obviar la necesidad de un cierto uso de antibióticos. Por otra parte, las vacunas pueden tener un papel útil: Laxminarayan y col. han estimado que la cobertura de vacunación contra *Streptococcus pneumoniae* mejoró y podría evitar 11,4 millones de días de antibióticos por año en los niños <5 años en todo el mundo.

### ► Mecanismos de RAM y su influencia en la práctica clínica

Si bien se cuenta con numerosas estrategias para reducir la demanda de antibióticos, la gama creciente de organismos resistentes plantea un problema inmediato para la salud humana. La mayor preocupación son los organismos y mecanismos de resistencia, como se detallan a continuación.

### ► Organismos resistentes a los carbapenemes

Las  $\beta$ -lactamasas son una familia de enzimas RAM que hidrolizan los anillos  $\beta$ -lactámicos, estructuras que están presentes en los antibióticos comunes como las penicilinas, las cefalosporinas y el aztreonam. Algunos son consideradas " $\beta$ -lactamasas de espectro extendido", ya que pueden inactivar una amplia gama de antibióticos  $\beta$ -lactámicos. Las carbapenemasas son miembros aún más versátiles de la familia de las  $\beta$ -lactamasas, debido a su capacidad de hidrolizar los antibióticos carbapenémicos y  $\beta$ -lactámicos tradicionales, en representación de los antibióticos de espectro más amplio que están disponibles para el tratamiento de las infecciones bacterianas gram-negativas.

Aunque muchos genes de la  $\beta$ -lactamasa se codifican en el cromosoma bacteriano, los genes de las  $\beta$ -lactamasas de amplio espectro y de la carbapenemasa, que hacen que las bacterias gram-negativas sean resistentes a importantes clases de antibióticos, por lo general están mediados por plásmidos. Los plásmidos son piezas normalmente circulares de ADN que se consideran móviles, ya que pueden pasarse entre las bacterias a través de la conjugación, un proceso que conecta brevemente el citoplasma de 2 bacterias permitiendo la transferencia horizontal de genes.

Los genes de la resistencia antimicrobiana se codifican en los cromosomas bacterianos, como las bombas de eflujo multifármacos en *P. aeruginosa* no móvil, usualmente inmóviles, mientras que las transportadas por plásmidos pueden diseminarse rápidamente entre las bacterias de la misma o diferente especie. Por otra parte, los plásmidos suelen llevar múltiples genes de RAM. A veces, estos genes adicionales son adquiridos a través de elementos de transposición o transposones. Los transposones son secuencias de ADN móvil que pueden integrar ya sea el cromosoma bacteriano o un plásmido, a menudo llevando genes de RAM.

Cromosómicamente, las carbapenemasas codificadas han sido reconocidas por décadas; sin embargo, solo en los últimos 15 años las carbapenemasas mediadas por plásmidos han cobrado importancia clínica. En EE. UU., por primera vez a principios de 2000 se informó que las bacterias entéricas llevan el gen de la carbapenemasa de *K. pneumoniae* (*bla<sub>KPC</sub>*). Esas bacterias se diseminaron en los centros de salud de los estados del noreste y luego en Israel. Dentro de la década, la variante *bla<sub>KPC</sub>* y varias carbapenemasas adicionales mediadas por plásmidos fueron identificadas en otras regiones del mundo, por lo general en las bacterias gram-negativas asociadas al cuidado de la salud. Pronto se hizo evidente que las infecciones por estos organismos multirresistentes se asociaban con tasas de mortalidad del 40% al 80%.

Las bacterias conteniendo la metalo- $\beta$ -lactamasa Nueva Delhi (NDM-1) fueron identificadas en la India en 2009 rápidamente se convirtieron en endémicas en todo el sur de Asia y países balcánicos. En la actualidad, el gen *bla<sub>NDM-1</sub>* ha sido implicado en infecciones nosocomiales y brotes en cada continente habitado. Las bacterias que contienen el gen *bla<sub>NDM-1</sub>* están tan difundidas en el subcontinente indio que se han cultivado en el agua de las alcantarillas, en los recién nacidos en hospitales y en infecciones adquiridas en la comunidad. El gen *bla<sub>NDM-1</sub>* ha sido identificado en una amplia gama de bacterias gram-negativas, aparte de la flora entérica, incluyendo *Acinetobacter* y *Pseudomonas*.

La familia OXA-48 es una de las primeras carbapenemasas transportadas por plásmido aparecidas en 2001 y durante los últimos 15 años se ha extendido por todo el mundo. En 2015, en EE. UU., los organismos portadores de estas enzimas causaron al menos 2 grupos de infecciones nosocomiales así como decenas de casos esporádicos de colonización o infección. Otras enzimas carbapenemasas clínicamente importantes incluyen la imipenemasa-1 y la Verona integrón metalo- $\beta$ -lactamasa (VIM).

En EE. UU. y Europa, los aislamientos productores de carbapenemasas se han identificado principalmente en los centros de salud,

con casos poco frecuentes observados en infecciones adquiridas en la comunidad. Han ocurrido varios brotes relacionados con los duodenoscopios contaminados, dando lugar a nuevos métodos para el reprocesamiento y diseño. El potencial de propagación de las cepas de bacterias adquiridas en la comunidad con plásmidos conteniendo carbapenemasas, como *E. coli* ST131, es una perspectiva relativa. Aunque existe poca evidencia de una amplia propagación fuera de la comunidad de Asia, el aislamiento de organismos productores de carbapenemasas en las aves salvajes y otros animales demuestra que hasta cierto punto las bacterias se han difundido desde del ámbito de los centros de salud.

En general, los organismos que producen carbapenemasas son resistentes a todos los fármacos  $\beta$ -lactámicos, aunque las bacterias productoras de NDM-1 pueden conservar la susceptibilidad al aztreonam. Por otra parte, estas bacterias suelen llevar al mismo tiempo otros factores de resistencia mediada por plásmidos. En tales casos, la tigeciclina, la polimixina y los aminoglucósidos suelen ser los únicos fármacos con actividad frente a estos microbios. Entre ellos, la tigeciclina tiene una eficacia limitada y su uso se ha asociado con malos resultados clínicos en infecciones graves. Así, las opciones terapéuticas son limitadas y la toxicidad de los pocos fármacos activos son en gran parte responsables de la elevada tasa de mortalidad asociada a estas infecciones.

Por lo general, las infecciones con organismos productores de carbapenemasas altamente resistentes se tratan con la combinación de antibióticos en un intento de lograr una mejor destrucción microbiana y preservar la susceptibilidad a las pocas opciones antibióticas restantes. Sin embargo, la exposición repetida y subóptima a los antibióticos y la dosificación inadecuada fomentan aún más la resistencia y pueden favorecer las infecciones por bacterias recrudescientes extremadamente resistentes a múltiples fármacos.

Las opciones de antimicrobianos más nuevos, como las combinaciones de inhibidores  $\beta$ -lactam y  $\beta$ -lactamasa ceftazidima-avibactam y ceftolozana-tazobactam son prometedoras para el tratamiento de algunos organismos productores de carbapenemasas. Su utilidad puede estar limitada por su elevado costo; la ceftazidima-avibactam carece de actividad contra las metalo  $\beta$ - $\square$ lactamasas (por ej., NDM-1 y VIM) y se ha reportado resistencia bacteriana a la ceftazidima-avibactam entre las bacterias que contienen *bla*<sub>KPC</sub>.

Por lo tanto, ha aparecido una amplia colección de plásmidos conteniendo carbapenemasas con diferentes efectos en la práctica clínica. Este grupo de organismos resistentes ha sido denominado "*Enterobacteriaceae* resistentes al carbapenem". Sin embargo, como se señaló antes, los plásmidos también suelen transportar bacterias que no son de la familia *Enterobacteriaceae*, y los médicos deben tener en cuenta esta posibilidad. *Acinetobacter baumannii*, un patógeno nosocomial común y persistente, es una bacteria más frecuentemente resistente al carbapenem que las *Enterobacteriaceae*.

Aunque en general, su resistencia al carbapenem está codificada cromosómicamente. *A. baumannii* también puede tener cepas nosocomiales con carbapenemasas mediadas por plásmidos. Las cepas nosocomiales de *A. baumannii* son mínimamente afectadas por la combinación de antibióticos de reciente desarrollo como ceftolozane-tazobactam, mientras que el antibiótico piperlina no parece ser una opción más efectiva, haciendo que *A. baumannii* siga siendo una preocupación importante en los pacientes hospitalizados.

#### ► Organismos resistentes a la colistina

En 2015, científicos chinos identificaron un gen contenido en un plásmido que confiere resistencia a las polimixinas como la colistina. El gen, *mcr-1*, se ha encontrado en las cepas humanas y animales de *Enterobacteriaceae* y representa la primera resistencia conocida a las polimixinas mediada por plásmidos; son antibióticos de último recurso para las bacterias gram-negativas. Aunque la resistencia de las bacterias gram negativas a la colistina no es nueva, las consecuencias epidemiológicas potenciales de la propagación rápida de las especies resistentes a la colistina mediada por plásmidos es preocupante.

Desde su descubrimiento, el *mcr-1* ha sido identificado en enterobacterias cultivadas en seres humanos, animales y carne, al menos en 5 continentes, incluyendo América del Norte. Como lo puso en evidencia un solo informe alemán, cuando este gen halla la manera de entrar en un organismo productor de carbapenemas altamente resistente, la resultante puede ser un organismo pan resistente, que es potencialmente intratable con cualquier agente antimicrobiano existente.

#### ► Consecuencias del tratamiento empírico

Otros patrones de RAM tienen consecuencias graves, incluso cuando la resistencia se limita a una única clase de fármaco. La resistencia puede complicar tempranamente el tratamiento de la infección antes de conocer los resultados de los cultivos, como sucede con el tratamiento empírico de la neumonía adquirida en la comunidad o las infecciones del tracto urinario, como así para la profilaxis quirúrgica. Por ejemplo, desde hace tiempo, las fluoroquinolonas han sido usadas para la profilaxis perioperatoria en los pacientes sometidos a una biopsia transrectal de próstata.

En la última década, cada vez hay más informes sobre sepsis post procedimiento por *E. coli* resistente a las fluoroquinolonas, lo que ha dado lugar a nuevos procedimientos selectivos para el cultivo rectal de dichas cepas, lo que requiere una visita adicional al urólogo y pruebas microbiológicas especializadas. Alternativamente, algunos hospitales han ampliado la profilaxis quirúrgica a fármacos combinados como ceftriaxona y gentamicina que cubren a *E. coli* resistente a las fluoroquinolonas. Sin embargo, este enfoque puede seleccionar diferentes cepas resistentes debido a la cobertura de amplio espectro, retrasando así las consecuencias clínicas de la resistencia hasta una fecha posterior.

#### ► El problema especial de *Clostridium difficile*

En EE. UU. *Clostridium difficile* es la principal causa de infecciones asociadas a la atención de la salud y una de las causas de las epidemias de infecciones nosocomiales. La resistencia de las bacterias a varios antibióticos permite la selección para el crecimiento excesivo en el intestino, cuando el microbioma intestinal se ve inactivado por los fármacos antibacterianos. En los hospitales, las esporas de *C. difficile* diseminadas por los pacientes infectados o colonizados persisten en las superficies de los objetos y pueden ser ingeridos por los pacientes que recibieron antibióticos y otras terapias. Por otra parte, la cepa BI/NAP1/027 hipervirulenta posee

una mayor resistencia a las fluoroquinolonas, lo que supone una ventaja selectiva en los pacientes tratados con esa clase de antimicrobianos.

La bacteria *C. difficile* no suele ser invasiva. Sin embargo, estos organismos elaboran exotoxinas (toxinas A y B) que causan un daño a la mucosa colónica que lleva a la infección. La enfermedad se manifiesta como diarrea y colitis, clásicamente con pseudomembranas del colon. En un estudio multicéntrico reciente, el 8% de los pacientes con infección por *C. difficile* desarrolló complicaciones graves, como el megacolon tóxico.

En EE. UU., la tasa de infección por *C. difficile* en pacientes hospitalizados casi se duplicó desde 2001 hasta 2010, alcanzado su máximo en 2011, a casi 147 casos/100.000 habitantes, y desde entonces ha disminuido ligeramente. Por el contrario, el Reino Unido ha experimentado una disminución de las tasas de infección por *C. difficile* de más del 75% desde 2007 (de 108 a 26 casos/100.000 habitantes), probablemente atribuible a medidas preventivas exitosas, incluyendo la administración de antimicrobianos, las estrictas medidas de control de las infecciones obligatorias, la higiene ambiental para eliminar las esporas y, el análisis en el paciente de las fallas y factores precipitantes, en los casos individuales de infección por *C. difficile*.

Generalmente, la infección por *C. difficile* es tratable con agentes antimicrobianos como el metronidazol oral para la infección leve a moderada, y la vancomicina oral para la infección recurrente. La infección más grave ocurre en aproximadamente el 20% de los pacientes, lo que subraya la importancia de la prevención con antimicrobianos. Los agentes más nuevos, como la fidaxomicina tienen algo más de eficacia en el tratamiento de la infección y la prevención de las recaídas.

La enfermedad grave o fulminante que no responde a la vancomicina o la fidaxomicina puede ser tratada quirúrgicamente. El trasplante de microbiota fecal (TMF) o la transferencia de heces con un microbioma fecal sano están basadas en la evidencia y es un tratamiento muy eficaz, con tasas de éxito del 81% a 94%. La elevada eficacia del TMF se ha convertido en un método estándar y una intervención frecuentemente bienvenida para los pacientes con recaídas recurrentes o enfermedad refractaria. Una variedad de agentes preventivos para *C. difficile* están en ensayos clínicos, incluidas las vacunas, los anticuerpos monoclonales, los agentes terapéuticos tales como las cepas no toxigénicas (para prevenir la recurrencia) y los compuestos que se unen a las toxinas.

### ≈ *Neisseria gonorrhoeae*

Otro organismo resistente cada vez más preocupante es *Neisseria gonorrhoeae*. La gonorrea es la segunda enfermedad transmisible más común en EE. UU. de notificación obligatoria (después de la enfermedad por clamidias). Recientemente, *N. gonorrhoeae* ha desarrollado resistencia a los antibióticos orales (por ej., azitromicina, fluoroquinolonas y la cefalosporina oral cefixima) utilizados anteriormente para tratar esta infección. En 2014, el 37% de los aislados de *N. gonorrhoeae* en EE. UU. era resistente al menos a 1 antibiótico. Aunque en EE. UU. en los últimos años la resistencia a la cefixima ha disminuido, también se ha producido un aumento lento e inexorable de la resistencia de *N. gonorrhoeae*, con opciones terapéuticas cada vez más escasas, lo que llevó a los CDC a declarar a *N. gonorrhoeae* resistente a los medicamentos como una de las amenazas microbianas más importantes para la salud pública.

El aumento de las tasas de resistencia a los agentes orales ha dejado a la ceftriaxona como el último tratamiento fiable para la gonorrea. Hay informes sobre resistencia a la ceftriaxona, presagiando la necesidad de aumentar las dosis y establecer nuevas combinaciones de fármacos para superar la resistencia. Las guías de tratamiento reflejan estos cambios que avanzan hacia el uso de combinaciones farmacológicas. El tratamiento de primera línea recomendado actualmente para la gonorrea en EE. UU. es la ceftriaxona más azitromicina, aún si las pruebas de ácido nucleico son negativas para *Chlamydia trachomatis*.

Estudios clínicos recientes han identificado combinaciones de fármacos que podrían ser utilizadas para el tratamiento de rescate de pacientes que no responden, como la azitromicina combinada con gentamicina o gemifloxacina. Aunque el tratamiento basado en la sensibilidad de *N. gonorrhoeae* en pacientes individuales podría ayudar a preservar la eficacia a largo plazo del arsenal antimicrobiano restante, la detección molecular rápida de la resistencia no está disponible para este organismo. El tratamiento para *N. gonorrhoea* debe iniciarse cuanto antes en el punto de atención, para asegurar la adherencia y reducir al mínimo la transmisión.

### ≈ *Staphylococcus aureus*

Durante las últimas 2 décadas, *S. aureus* resistente a la meticilina (SARM) ha sido una de las principales preocupaciones de salud pública. El SARM es segundo solo por *C. difficile* como causa de infecciones asociadas al cuidado de la salud. En la década de 2000, la cepa USA300 adquirida en la comunidad era la etiología predominante de las infecciones de piel y tejidos blandos en el contexto comunitario. La resistencia a la meticilina es conferida por el gen *mecA*; muchos aislados de SARM también contienen  $\beta$ -lactamasas y genes que confieren resistencia a la clindamicina.

Durante décadas, la vancomicina fue el único antimicrobiano disponible para la terapia intravenosa efectiva de las infecciones por SARM. Los aislados de SARM con menor sensibilidad a la vancomicina, conocidos como *S. aureus* vancomicina intermedia, han sido identificados con poca frecuencia en infecciones clínicas. Las cepas de *S. aureus* vancomicina intermedia han engrosado las paredes celulares que contienen dipéptidos de unión a la vancomicina, lo que bloquea el fármaco y provoca su disminución en el destino final. En la década de 2000, la identificación de *S. aureus* resistente a la vancomicina en aislados clínicos no era del todo inesperada: el gen *vanA* de resistencia a la vancomicina mediada por plásmidos se halla regularmente en los aislados de cepas de enterococos resistentes a la vancomicina asociados a la atención de la salud.

Por lo tanto, existe una gran oportunidad para la transferencia génica de los enterococos resistentes a la vancomicina a en pacientes o entornos en los que los organismos coexisten. Si bien esta transferencia intergénica se produce, hasta la fecha solo ha sido documentada en un puñado de casos identificados. Dada la movilidad del ADN de los plásmidos la razón por la cual las infecciones por *S. aureus* resistente a la vancomicina han permanecido tan poco comunes es poco clara.

Existen muchos fármacos disponibles para el tratamiento del SARM, sin embargo, son pocos los recomendados para el tratamiento de las infecciones profundas que comprometen estructuras corporales, como la endocarditis y la osteomielitis. Desde los últimos 15

años, los medicamentos nuevos como la daptomicina, el linezolid y la oritavancina ya están disponibles para el tratamiento de las infecciones graves por gram-positivos resistentes, ofreciendo alternativas a la vancomicina (en países en los que estos medicamentos nuevos de alto costo se pueden obtener). A pesar de que se ha informado la existencia de resistencia a los fármacos más recientes, todavía conservan una considerable actividad contra SARM y tienen el potencial de tratar *S. aureus* resistente a la vancomicina en el caso de que su generalización se convierta en un problema.

### ► El futuro de las investigaciones

Dado que la resistencia a los antibióticos es inevitable, los investigadores deben responder con estrategias innovadoras para identificar y desarrollar fármacos nuevos, vacunas y otras intervenciones inmunológicas profilácticas, y crear nuevos métodos terapéuticos que sean menos propensos que los antibióticos típicos a producir resistencia.

### ► Tecnologías para facilitar el descubrimiento y desarrollo de medicamentos

Una de las razones para el escaso número de antibióticos nuevos es que las fuentes tradicionales de estos productos han sido evaluadas cuidadosamente hasta el punto que prácticamente todos los compuestos antibacterianos prometedores ya han sido identificados. Estas fuentes incluyen los catálogos químicos utilizados por las compañías farmacéuticas y la pequeña proporción de bacterias y hongos productores de antibióticos que pueden cultivarse fácilmente. Para mejorar esta situación, los investigadores están desarrollando nuevas herramientas para identificar nuevos antibióticos de origen natural, como la plataforma iChip que facilita la detección de productos naturales de los organismos del suelo que antes no podían cultivarse, simulando su ambiente nativo.

Utilizando esta tecnología, los investigadores identificaron la teixobactina, un antibiótico que posee un mecanismo de acción nuevo. Aunque la teixobactina se encuentra todavía en las primeras etapas de desarrollo, esta experiencia sugiere que la tecnología iChip podría ser una manera eficaz de identificar nuevas clases de antibióticos. Los investigadores también están explorando otras fuentes no explotadas de productos, como los microbios marinos y las bacterias que viven en condiciones extremas. Por otra parte, se están evaluando la actividad y viabilidad de los péptidos antimicrobianos conocidos como bacteriocinas, producidos por las bacterias, para ser utilizados como productos. Aunque estos nuevos enfoques farmacológicos terapéuticos son prometedores, la búsqueda de fármacos también podría mejorarse con métodos que reflejan mejor las condiciones fisiológicas.

### ► Aprovechamiento del sistema inmunológico

Se han desarrollado con éxito vacunas capaces de prevenir la infección bacteriana, la enfermedad o ambas, evitando el problema del SARM, y han sido desarrolladas para combatir varios patógenos bacterianos. Sin embargo, el desarrollo de vacunas para los patógenos bacterianos asociados a la atención de la salud ha sido un reto, debido a la inadecuada comprensión de la correlación inmunitaria de protección, mecanismos patógenos complejos y la gran variedad de cepas y antígenos. En este sentido, varios programas de desarrollo de vacunas antiestafilocócicas han fallado en la fase 3 de los ensayos clínicos, a pesar de la promesa de los datos preclínicos y clínicos tempranos. Sin embargo, un número de vacunas propuestas para las infecciones asociadas a la atención de la salud sigue en desarrollo clínico y, si tiene éxito, probablemente serían utilizadas en poblaciones seleccionadas de individuos en riesgo.

La infusión pasiva de anticuerpos monoclonales proporciona opciones adicionales para el tratamiento y la prevención. Se están desarrollando anticuerpos monoclonales para ser utilizados en combinación con antibióticos en pacientes gravemente enfermos con ciertas infecciones bacterianas (por ej., *S. aureus* y *P. aeruginosa*), así como para la profilaxis. La baja toxicidad y vida media larga en el suero de ciertos anticuerpos monoclonales, así como la ausencia de presión selectiva mediada por fármacos cuando convencional cuando son utilizados como antimicrobianos los convierte en opciones atractivas, especialmente para la profilaxis.

Los anticuerpos monoclonales son particularmente prometedores para las poblaciones de pacientes con respuestas subóptimas a la vacunación debido a su afectación inmunológica, senescencia inmunitaria u otras condiciones. Por otra parte, se han desarrollado anticuerpos biespecíficos que simultáneamente pueden unirse a los patógenos y activar las células T para ser utilizados contra tumores y células infectadas con virus. En el futuro, tales innovaciones podrían adaptarse para tratar las infecciones bacterianas.

Se han hecho considerables progresos en la identificación de las vías de señalización y de los receptores del sistema de inmunidad innata. Los investigadores han identificado nuevos potenciadores de la inmunidad innata que pueden ser efectivos como vacunas adyuvantes o directamente como modalidades terapéuticas. Tal mejoramiento inmunológico podría disminuir las dosis de antibiótico requeridas, la duración del tratamiento, o ambas, y de ese modo disminuir la presión selectiva que lleva a la resistencia. Algunos prospectos incluyen estrategias basadas en la inmunidad innata ampliamente activas, tales como las defensinas, la proteína bactericida/inductora de permeabilidad, los péptidos diseñados con motivos  $\gamma$ -core o peptidomiméticos, el complemento, los componentes de secreciones mucosas, incluyendo el surfactante y, los mediadores que resuelven la inflamación.

### ► Manipulación de las comunidades microbianas para contrarrestar las infecciones resistentes

Las diversas comunidades de microbios que habitan en el cuerpo humano (microbiota) sustentan la salud humana de muchas maneras y representan un papel fundamental en la protección contra las enfermedades infecciosas. Los elementos de la microbiota son diversos e incluyen bacterias, hongos y virus. El potencial para manipular la microbiota con el fin de tratar la infección ya ha sido demostrado con el uso exitoso del TMF para el tratamiento de las infecciones por *C. difficile*. El uso de este procedimiento para descolonizar a los pacientes con organismos resistentes a múltiples fármacos es el objeto de una investigación activa. Por ejemplo, los investigadores están trabajando para traducir el potencial terapéutico del TMF en productos bioterapéuticos vivos o en fármacos compuestos de organismos vivos específicos y caracterizados.

Aunque el microbioma intestinal es el principal objetivo para la prevención y tratamiento de la infección, existe un potencial para extender este enfoque a las infecciones en otros sitios colonizados, como la piel o el aparato respiratorio. Otros tipos de conceptos

bioterapéuticos vivos innovadores también están siendo explorados, como la explotación de las bacterias *Bdellovibrio* y *Micavibrio* que parasitan los patógenos gran-negativos.

Los bacteriófagos, virus que infectan y matan a las bacterias con una elevada especificidad, también representan una herramienta prometedora para hacer frente a la RAM. Desde su descubrimiento en el año 1900, los médicos han tratado de explotar el potencial de los bacteriófagos para tratar las infecciones bacterianas. Desde principios de 1920 hasta la década de 1930, los fagos eran indicados para la infección de las heridas, la disentería, el cólera y la plaga. Con la introducción de medicamentos antibacterianos de amplio espectro, tanto en EE. UU. como en Europa Occidental, la terapia con fagos cayó en desuso, pero se siguió utilizando en Rusia y Europa del Este.

Sin embargo, la mayoría de los estudios que utilizan la terapia con fagos no fueron hechos siguiendo los estándares normativos de los ensayos clínicos modernos y plantean dudas acerca de su eficacia. Sin embargo, los resultados clínicos fueron alentadores, en particular para las infecciones supurativas resistentes a los antibióticos. La aplicación potencial de la terapia de fagos a las infecciones resistentes a los medicamentos, así como su especificidad para los patógenos, ha conducido a un resurgimiento de los esfuerzos para evaluar este enfoque en la prevención y tratamiento de las infecciones bacterianas.

Un estudio aleatorizado, doble ciego y controlado con placebo reciente sobre la terapia de fagos en los pacientes del Reino Unido con infecciones crónicas por *P. aeruginosa* resistentes a los antibióticos ha demostrado un beneficio clínico significativo mientras que un ensayo clínico europeo en curso está evaluando la eficacia de la terapia de fagos para tratar las quemaduras y heridas.

También se han desarrollado y evaluado modalidades de fagos innovadoras. Las lisinas son enzimas líticas producidas por fagos que destruyen selectivamente los patógenos gram-positivos con una elevada especificidad y dispersión de biopelículas. El primer producto terapéutico de este tipo contra *S. aureus* comercialmente desarrollado está actualmente en la fase 1 de los ensayos clínicos. Los investigadores también están utilizando los fagos como un punto de partida para el desarrollo de productos de ingeniería que pueden modular las células bacterianas, incluyendo sus mecanismos de resistencia antibiótica y factores de virulencia.

Se están explorando otras herramientas innovadoras por su capacidad de dirigir las bacterias resistentes; se trata de sistemas que probablemente evolucionaron para proteger a las bacterias de los fagos: sistema CRISPR-CAS (clustered regularly interspaced short palindromic-CAS), capaz de editar el genoma en forma precisa. Por ejemplo, entre los enterococos, los fenotipos resistentes a múltiples fármacos parecen correlacionarse con la pérdida de los sistemas CRISPR funcionales, lo que sugiere que algunas bacterias pueden negociar su sistema de defensa CRISPR para adquirir la capacidad de rasgos de resistencia nuevos a través de una mayor transferencia horizontal de genes. Algunos investigadores han propuesto tomar ventaja de esta observación mediante el uso de fagos para liberar específicamente los sistemas CRISPR para apuntar a los genes de resistencia, asegurando que solo sean alcanzadas las cepas resistentes.

### ► Estrategias antivirulencia

Los factores que contribuyen a la virulencia de los patógenos—tales como las toxinas, los sistemas de adquisición de hierro, los sistemas de secreción, las vías de detección de la sensibilidad quórum, las adhesinas y la formación de biopelículas—tienen el potencial de ser explotados como nuevos objetivos terapéuticos. Tener como objetivo selectivamente a los factores de virulencia es atractivo porque esta estrategia no afecta la viabilidad de los microbios y por lo tanto no ejerce la presión selectiva ejercida por los antimicrobianos convencionales.

El objetivo de la terapéutica antivirulencia es reducir la patogenicidad al mismo tiempo que se permite que el huésped elimine la infección bacteriana. A este enfoque se le suma la ventaja de preservar la microbiota del huésped. Sin embargo, si la terapéutica antivirulencia llega a ser de uso clínico serán necesarios nuevos enfoques para las pruebas y modelos preclínicos. Por ejemplo, los modelos animales de eficacia tendrán que reflejar con mayor precisión la progresión clínica de la enfermedad y se tendrán que hacer nuevos ensayos in vitro.

### ► Diagnóstico

Al abordar el problema de la resistencia bacteriana, remarcar la importancia del diagnóstico rápido para la administración óptima de antibióticos no es exagerado. Aunque la espectrometría de masa ha acelerado la identificación de bacterias y hongos, esta tecnología, así como las pruebas de sensibilidad antimicrobiana, sigue dependiendo en gran medida de los cultivos. Por lo tanto, el tratamiento empírico con antibióticos de amplio espectro suele iniciarse antes de contar con el resultado del cultivo. Los requisitos para una prueba diagnóstica óptima difieren dependiendo del contexto clínico.

|| *Al abordar el problema de la resistencia bacteriana, remarcar la importancia del diagnóstico rápido para la administración óptima de antibióticos no es exagerado.*

En un paciente hospitalizado, una prueba con una espera de la respuesta de varias horas puede ser suficiente, mientras que los pacientes ambulatorios pueden requerir una prueba sencilla en el punto de atención, la cual puede proporcionar resultados mientras el paciente espera, idealmente, menos de 30 minutos. También existen diferencias en los problemas técnicos para las muestras clínicas típicamente estériles vs. las muestras no estériles. Por ejemplo, las infecciones bacterianas del torrente sanguíneo pueden ser difíciles de detectar debido al escaso número de organismos presentes en la sangre.

Actualmente todas las pruebas aprobados por la FDA para esta indicación requieren algún cultivo antes de la identificación. Sin embargo, varias empresas están explotando nuevas tecnologías sensibles, como la tecnología por resonancia magnética, la hibridación por fluorescencia in situ y el perfil transcripcional, con el fin de detectar directamente a los patógenos de una muestra de sangre y eliminar así la necesidad de la etapa de cultivo. Por otra parte, distinguir la colonización de la infección en sitios no estériles presenta un problema técnico diferente. Por ejemplo, en las infecciones del tracto respiratorio, los organismos detectados pueden no ser los causantes de los síntomas del paciente.

Para evitar estos problemas, los investigadores están desarrollando ensayos basados en la respuesta del huésped con expresión de firmas genéticas, lo que podría ayudar a distinguir la colonización de la infección bacteriana y viral. En algunos países, los biomarcadores como la procalcitonina se utilizan como sustitutos de la infección para apoyar el diagnóstico microbiológico; también se están explorando como herramientas para guiar la iniciación de la terapia empírica.

Los desarrollos comerciales para el diagnóstico rápido también se encuentran con problemas prácticos para la validación clínica de sus pruebas, tales como el acceso a los aislados clínicos para la validación de las pruebas. Recientemente, recursos tales como el CDC-FDA Isolate Bank y el the Antibiotic Resistance Leadership Group Virtual Repository han sido establecidos para proporcionar paneles de aislados clínicos bien caracterizados. Por otra parte, el Antibiotic Resistance Leadership Group planea desarrollar protocolos maestros para el diagnóstico, en los que se puede utilizar el mismo grupo de pacientes para validar múltiples pruebas de diagnóstico, en forma simultánea.

<b>Nuevos enfoques para combatir la resistencia antimicrobiana</b>	
<b>Tipo de enfoque</b>	<b>Ejemplos representativos</b>
<p><b>Descubrimiento de antibióticos</b></p> <p>Nuevas maneras de identificar los antibióticos naturales</p> <p>Fuentes de productos de origen natural sin explotar</p> <p>Péptidos antimicrobianos</p>	<p>Tecnología iChip: detección de fármacos que reflejan las condiciones fisiológicas</p> <p>Microbios marinos que viven en condiciones extremas</p> <p>Bacteriocinas (péptidos producidos por bacterias) con actividad bactericida</p>
<p><b>Aprovechar el sistema inmunológico</b></p> <p>Vacunas</p> <p>Desarrollo de antibióticos monoclonales</p> <p>Productos de inmunidad innata</p>	<p>Vacunas contra las principales causas de infecciones asociadas al cuidado de la salud (por ej., <i>Staphylococcus</i>)</p> <p>En desarrollo para infecciones graves por <i>Pseudomonas</i> y <i>Staphylococcus</i></p> <p>Productos que mejoran los beneficios o suprimen las respuestas inmunes supresoras (por ej., moléculas modulan las interacciones del receptor 4 similar Toll/lipopolisacárido)</p>
<p><b>Manipulación de comunidades microbianas</b></p> <p>Trasplante de microbiota fecal</p> <p>Bioterapéuticos vivos</p> <p>Bacteriófagos</p>	<p>Usado para las infecciones por <i>Clostridium difficile</i>; en exploración para otras indicaciones</p> <p>Medicamentos compuestos por organismos vivos específicos y caracterizados (por ej., por <i>C. difficile</i>)</p> <p>Tratamiento tópico para las infecciones bacterianas en quemados</p>
<p><b>Estrategias antivirulencia</b></p> <p>Toxinas</p> <p>Sistemas de secreción</p>	<p>Anticuerpos antitoxina para <i>C. difficile</i></p> <p>Inhibidores de la secreción de sistemas que bloquean la secreción de factores de virulencia bacteriana (por ej., para la infección por <i>Pseudomonas</i>)</p>



Formación de biopelículas	recubrimientos de dispositivos; compuestos que inhiben el crecimiento bacteriano mediante el bloqueo de la comunicación (quorum sensing: autoinducción)
<b>Diagnóstico rápido</b>	
Punto de atención	Pruebas para distinguir las causas bacterianas y virales de la enfermedad respiratoria; pruebas rápidas para la resistencia a los medicamentos (por ej., para la gonorrea)
Dependiente de cultivo	Tecnología de resonancia magnética; perfilado transcripcional
+Biomarcadores	Procalcitonina sérica que indica infección bacteriana

### ► Mirando hacia el futuro

Aunque los avances en la investigación biomédica son prometedores en el campo de la prevención y tratamiento de la RAM, muchas de estas tecnologías se hallan en las primeras etapas de investigación. Mientras tanto, una acción eficaz puede reducir la difusión y mitigar los efectos negativos de las bacterias resistentes existentes en la actualidad. Los profesionales médicos y los centros de salud representan un papel importante mediante la implementación de programas de administración de antimicrobianos, reducción de la prescripción inadecuada, inmunización contra las bacterias y patógenos virales y la implementación de medidas de control de las infecciones, incluyendo el mejoramiento de la vigilancia de los microorganismos resistentes.

Los planes nacionales como President's National Strategy for Combating Antibiotic Resistant Bacteria, diseñan enfoques más amplios, planificando las contribuciones de los profesionales de la salud, investigadores biomédicos y sectores farmacéuticos y agrícolas (entre otros). También están en marcha importantes esfuerzos internacionales, supervisados por la OMS. Estos programas requieren una aplicación comprometida y concertada para poner en evidencia lo que prometen. Sin una respuesta coordinada, la edad post antibiótica presagiada por muchos es una posibilidad diferente y problemática.

♦ Resumen y comentario objetivo: Dra. Marta Papponetti

## Página 2

### Referencias

- Centers for Disease Control and Prevention. *Antibiotic Resistance Threats in the United States*, 2013. <http://www.cdc.gov/drugresistance/threat-report-2013/>. Accessed January 12, 2016.
- President's Council of Advisors on Science and Technology. Report to the President on combating Review of Antimicrobial Resistance Special Communication Clinical Review& Education jama.com (Reprinted) JAMA September 20, 2016 Volume 316, Number 11 1201
- Gelband H, Miller-Petrie M, Pant S, et al. *State of the World's Antibiotics, 2015*. Washington, DC: Center for Disease Dynamics, Economics, and Policy; 2015. [http://cddep.org/publications/state\\_worlds\\_antibiotics\\_2015#sthash.118BFUu2.dpbs](http://cddep.org/publications/state_worlds_antibiotics_2015#sthash.118BFUu2.dpbs). Accessed January 6, 2016.
- Yong D, Toleman MA, Giske CG, et al. Characterization of a new metallo- $\beta$ -lactamase gene, blaNDM-1, and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009;53(12):5046-5054.
- Liu YY, Wang Y, Walsh TR, et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism *mcr-1* in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *Lancet Infect Dis*. 2016;16(2):161-168.
- Pray L. Antibiotic resistance, mutation rates and MRSA. *Nature Educ*. 2008;1(1):30.
- D'Costa VM, King CE, Kalan L, et al. Antibiotic resistance is ancient. *Nature*. 2011;477(7365):457-461.
- Bhullar K, Waglechner N, Pawlowski A, et al. Antibiotic resistance is prevalent in an isolated cave microbiome. *PLoS One*. 2012;7(4):e34953.
- Hall BG, Salipante SJ, Barlow M. Independent origins of subgroup BI + B2 and subgroup B3 metallo- $\beta$ -lactamases. *J Mol Evol*. 2004;59(1):133-141.
- Van Boeckel TP, Brower C, Gilbert M, et al. Global trends in antimicrobial use in food animals. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2015;112(18):5649-5654.

11. US Food and Drug Administration. 2014 Summary report on antimicrobials sold or distributed for use in food-producing animals. <http://www.fda.gov/downloads/ForIndustry/UserFees/AnimalDrugUserFeeActADUFA/UCM476258.pdf>. Published December 2015. Accessed January 12, 2016.
12. Marshall BM, Levy SB. Food animals and antimicrobials: impacts on human health. *Clin Microbiol Rev*. 2011;24(4):718-733.
13. Chantziaras I, Boyen F, Callens B, Dewulf J. Correlation between veterinary antimicrobial use and antimicrobial resistance in food-producing animals: a report on seven countries. *J Antimicrob Chemother*. 2014;69(3):827-834.
14. Price LB, Stegger M, Hasman H, et al. *Staphylococcus aureus* CC398: host adaptation and emergence of methicillin resistance in livestock. *MBio*. 2012;3(1):e00305-11.
15. US Food and Drug Administration. *Final Rule: Antimicrobial Animal Drug Sales and Distribution Reporting*. <https://federalregister.gov/articles/2016/05/11/2016-11082/antimicrobial-animal-drug-sales-and-distribution-reporting>. Published 2016. Accessed June 20, 2016.
16. Schmieder R, Edwards R. Insights into antibiotic resistance through metagenomic approaches. *Future Microbiol*. 2012;7(1):73-89.
17. Ayliffe GA. Cephalosporinase and penicillinase activity of gram-negative bacteria. *J Gen Microbiol*. 1965;40(1):119-126.
18. Lee EH, Nicolas MH, Kitzis MD, Pialoux G, Collatz E, Gutmann L. Association of two resistance mechanisms in a clinical isolate of *Enterobacter cloacae* with high-level resistance to imipenem. *Antimicrob Agents Chemother*. 1991;35(6):1093-1098.
19. US Food and Drug Administration. Drugs@FDA: FDA Approved Drug Products. <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/drugsatfda/>. Published 2016. Accessed June 21, 2016.
20. Barlam TF, Cosgrove SE, Abbo LM, et al. Implementing an antibiotic stewardship program: guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the Society for Healthcare Epidemiology of America. *Clin Infect Dis*. 2016;62(10):e51-e77.
21. Joint Commission. Approved: new antimicrobial stewardship standard. [https://www.jointcommission.org/new\\_antimicrobial\\_stewardship\\_standard/](https://www.jointcommission.org/new_antimicrobial_stewardship_standard/). Published July 19, 2016. Accessed August 24, 2016.
22. Suda KJ, Hicks LA, Roberts RM, Hunkler RJ, Danziger LH. A national evaluation of antibiotic expenditures by healthcare setting in the United States, 2009. *J Antimicrob Chemother*. 2013;68(3): 715-718.
23. Fleming-Dutra KE, Hersh AL, Shapiro DJ, et al. Prevalence of inappropriate antibiotic prescriptions among US ambulatory care visits, 2010-2011. *JAMA*. 2016;315(17):1864-1873.
24. Morgan DJ, Okeke IN, Laxminarayan R, Perencevich EN, Weisenberg S. Non-prescription antimicrobial use worldwide: a systematic review. *Lancet Infect Dis*. 2011;11(9):692-701.
25. Centers for Disease Control and Prevention. Get Smart About AntibioticsWeek. <https://www.cdc.gov/getsmart/week/>. Published February 2016. Accessed August 24, 2016.
26. Travasso C. India draws a red line under antibiotic misuse. *BMJ*. 2016;352:i1202.
27. Meeker D, Linder JA, Fox CR, et al. Effect of behavioral interventions on inappropriate antibiotic prescribing among primary care practices: a randomized clinical trial. *JAMA*. 2016;315(6):562-570.
28. Gerber JS, Prasad PA, Fiks AG, et al. Effect of an outpatient antimicrobial stewardship intervention on broad-spectrum antibiotic prescribing by primary care pediatricians: a randomized trial. *JAMA*. 2013;309(22):2345-2352.
29. Boucher HW, Talbot GH, Benjamin DK Jr, et al; Infectious Diseases Society of America. 10 x '20 Progress—development of new drugs active against gram-negative bacilli: an update from the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 2013; 56(12):1685-1694.
30. US Food and Drug Administration. New drugs at FDA. <http://www.fda.gov/Drugs/DevelopmentApprovalProcess/DrugInnovation/ucm483775.htm>. Accessed August 24, 2016.
31. Outterson K, Powers JH, Seoane-Vazquez E, Rodriguez-Monguio R, Kesselheim AS. Approval and withdrawal of new antibiotics and other anti-infectives in the US, 1980-2009. *J Law Med Ethics*. 2013;41(3):688-696.
32. Theuretzbacher U. Recent FDA antibiotic approvals: good news and bad news. Center for Disease Dynamics, Economics, and Policy website. [http://cddep.org/blog/posts/recent\\_fda\\_antibiotic\\_approvals\\_good\\_news\\_and\\_bad\\_news#sthash.GFOk734M.dpbs](http://cddep.org/blog/posts/recent_fda_antibiotic_approvals_good_news_and_bad_news#sthash.GFOk734M.dpbs). Published March 12, 2015. Accessed June 21, 2016.
33. The Pew Charitable Trusts. Antibiotics currently in clinical development. <http://www.pewtrusts.org/en/multimedia/data-visualizations/2014/antibiotics-currently-in-clinical-development>. Published 2015. Accessed June 16, 2016.
34. Laxminarayan R, Matsoso P, Pant S, et al. Access to effective antimicrobials: a worldwide challenge. *Lancet*. 2016;387(10014):168-175.
35. Leavitt A, Navon-Venezia S, Chmelnitsky I, Schwaber MJ, Carmeli Y. Emergence of KPC-2 and KPC-3 in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* strains in an Israeli hospital. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007;51(8):3026-3029.
36. Guh AY, Bulens SN, Mu Y, et al. Epidemiology of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in 7 US communities, 2012-2013.

37. Ben-David D, Kordevani R, Keller N, et al. Outcome of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections. *Clin Microbiol Infect*. 2012;18(1):54-60.
38. Mathers AJ, Cox HL, Kitchel B, et al. Molecular dissection of an outbreak of carbapenem-resistant enterobacteriaceae reveals intergenus KPC carbapenemase transmission through a promiscuous plasmid. *MBio*. 2011;2(6):e00204-e00211.
39. Satlin MJ, Calfee DP, Chen L, et al. Emergence of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae as causes of bloodstream infections in patients with hematologic malignancies. *Leuk Lymphoma*. 2013; 54(4):799-806.
40. Snitkin ES, Zelazny AM, Thomas PJ, et al; NISC Comparative Sequencing Program Group. Tracking a hospital outbreak of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* with whole-genome sequencing. *Sci Transl Med*. 2012;4(148):148ra116.
41. Dortet L, Poirel L, Nordmann P. Worldwide dissemination of the NDM-type carbapenemases in gram-negative bacteria. *Biomed Res Int*. doi:10.1155/2014/249856
42. Berrazeg M, Diene S, Medjahed L, et al. New Delhi metallo- $\beta$ -lactamase around the world: an eReview using Google Maps. *Euro Surveill*. 2014;19(20):20809.
43. Biedenbach D, Bouchillon S, Hackel M, et al. Dissemination of NDM metallo- $\beta$ -lactamase genes among clinical isolates of Enterobacteriaceae collected during the SMART global surveillance study from 2008 to 2012. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015;59(2):826-830.
44. Walsh TR, Weeks J, Livermore DM, Toleman MA. Dissemination of NDM-1 positive bacteria in the New Delhi environment and its implications for human health: an environmental point prevalence study. *Lancet Infect Dis*. 2011;11(5):355-362.
45. Datta S, Roy S, Chatterjee S, et al. A five-year experience of carbapenem resistance in Enterobacteriaceae causing neonatal septicaemia: predominance of NDM-1. *PLoS One*. 2014;9(11):e112101.
46. Kumarasamy KK, Toleman MA, Walsh TR, et al. Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. *Lancet Infect Dis*. 2010;10(9):597-602.
47. Lyman M, Walters M, Lonsway D, Rasheed K, Limbago B, Kallen A. Notes from the field: carbapenem-resistant Enterobacteriaceae producing OXA-48-like carbapenemases—United States, 2010-2015. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2015;64(47):1315-1316.
48. Khatri A, Naeger Murphy N, Wiest P, et al. Community-acquired pyelonephritis in pregnancy caused by KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015;59(8):4375-4378.
49. Nordmann P, Couard JP, Sansot D, Poirel L. Emergence of an autochthonous and community-acquired NDM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* in Europe. *Clin Infect Dis*. 2012;54(1):150-151.
50. Epstein L, Hunter JC, Arwady MA, et al. New Delhi metallo- $\beta$ -lactamase-producing carbapenem-resistant *Escherichia coli* associated with exposure to duodenoscopes. *JAMA*. 2014;312(14):1447-1455.
51. Rubin Z. Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* following ERCP at RRUMC December, 2014 to January, 2015. Paper presented at: Gastroenterology and Urology Devices Panel of the Medical Devices Advisory Committee; May 14-15, 2015; Silver Spring, MD.
52. Guerra B, Fischer J, Helmuth R. An emerging public health problem: acquired carbapenemase-producing microorganisms are present in food-producing animals, their environment, companion animals and wild birds. *Vet Microbiol*. 2014;171(3-4):290-297.
53. Prasad P, Sun J, Danner RL, Natanson C. Excess deaths associated with tigecycline after approval based on noninferiority trials. *Clin Infect Dis*. 2012;54(12):1699-1709.
54. Tumbarello M, Viale P, Viscoli C, et al. Predictors of mortality in bloodstream infections caused by *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *K pneumoniae*: importance of combination therapy. *Clin Infect Dis*. 2012;55(7):943-950.
55. Red Book Online. 2016; <http://micromedex.com/products/product-suites/clinical-knowledge/redbook>. Accessed June 21, 2016.
56. Humphries RM, Yang S, Hemarajata P, et al. First report of ceftazidime-avibactam resistance in a KPC-3-expressing *Klebsiella pneumoniae* isolate. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015;59(10):6605-6607.
57. European Centre for Disease Prevention and Control. Plasmid-mediated colistin resistance in Enterobacteriaceae. <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/enterobacteriaceae-risk-assessment-diseases-caused-by-antimicrobial-resistant-microorganisms-europe-june-2016.pdf>. Published June 13, 2016. Accessed June 15, 2016.
58. Skov RL, Monnet DL. Plasmid-mediated colistin resistance (*mcr-1* gene): three months later, the story unfolds. *Euro Surveill*. 2016;21(9):30155.
59. US Department of Health and Human Services. Proactive efforts by US federal agencies enable early detection of new antibiotic resistance. <http://www.hhs.gov/blog/2016/05/26/early-detection-new-antibiotic-resistance.html>. Published May 26, 2016. Accessed June 21, 2016.

60. McGann P, Snesrud E, Maybank R, et al. *Escherichia coli* harboring *mcr-1* and *bla*CTX-M on a novel IncF plasmid: first report of *mcr-1* in the United States. *Antimicrob Agents Chemother*. 2016;60(7):4420-4421.
61. Falgenhauer L, Waezsada SE, Yao Y, et al; RESET consortium. Colistin resistance gene *mcr-1* in extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing and carbapenemase-producing gram-negative bacteria in Germany. *Lancet Infect Dis*. 2016;16(3):282-283.
62. Liss MA, Johnson JR, Porter SB, et al. Clinical and microbiological determinants of infection after transrectal prostate biopsy. *Clin Infect Dis*. 2015;60(7):979-987.
63. Marino K, Parlee A, Orlando R, Lerner L, Strymish J, Gupta K. Comparative effectiveness of single versus combination antibiotic prophylaxis for infections after transrectal prostate biopsy. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015;59(12):7273-7275.
64. Magill SS, Edwards JR, Bamberg W, et al; Emerging Infections Program Healthcare-Associated Infections and Antimicrobial Use Prevalence Survey Team. Multistate point-prevalence survey of health care-associated infections. *N Engl J Med*. 2014;370(13):1198-1208.
65. McDonald LC, Killgore GE, Thompson A, et al. An epidemic, toxin gene-variant strain of *Clostridium difficile*. *N Engl J Med*. 2005;353(23):2433-2441.
66. Abou Chakra CN, McGeer A, Labbe AC, et al. Factors associated with complications of *Clostridium difficile* infection in a multicenter prospective cohort. *Clin Infect Dis*. 2015;61(12):1781-1788.
67. Reveles KR, Lee GC, Boyd NK, Frei CR. The rise in *Clostridium difficile* infection incidence among hospitalized adults in the United States: 2001-2010. *Am J Infect Control*. 2014;42(10):1028-1032.
68. Lessa FC, Mu Y, Bamberg WM, et al. Burden of *Clostridium difficile* infection in the United States. *N Engl J Med*. 2015;372(9):825-834.
69. Public Health England. Annual epidemiological commentary: mandatory MRSA, MSSA and *E coli* bacteraemia and *C difficile* infection data, 2014/15.  
[https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment\\_data/file/442952/Annual\\_Epidemiological\\_Commentary\\_FY\\_2014\\_2015.pdf](https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/442952/Annual_Epidemiological_Commentary_FY_2014_2015.pdf).  
Published July 9, 2015. Accessed June 19, 2016.
70. Gilchrist M, Wade P, Ashiru-Oredope D, et al. Antimicrobial stewardship from policy to practice: experiences from UK antimicrobial pharmacists. *Infect Dis Ther*. 2015;4(suppl 1):51-64.
71. Cohen SH, Gerding DN, Johnson S, et al; Society for Healthcare Epidemiology of America; Infectious Diseases Society of America. Clinical practice guidelines for *Clostridium difficile* infection in adults: 2010 update by the Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA) and the Infectious Diseases Society of America (IDSA). *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2010;31(5):431-455.
72. van Nood E, Vrieze A, Nieuwdorp M, et al. Duodenal infusion of donor feces for recurrent *Clostridium difficile*. *N Engl J Med*. 2013;368(5):407-415.
73. Gerding DN, Meyer T, Lee C, et al. Administration of spores of nontoxigenic *Clostridium difficile* strain M3 for prevention of recurrent *C difficile* infection: a randomized clinical trial. *JAMA*. 2015;313(17):1719-1727.
74. Workowski KA, Bolan GA; Centers for Disease Control and Prevention. Sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2015. *MMWR Recomm Rep*. 2015;64(RR-03):1-137.
75. Centers for Disease Control and Prevention. 2014 Sexually transmitted disease surveillance.  
<http://www.cdc.gov/std/stats14/toc.htm>. Accessed January 15, 2016.
76. Kirkcaldy RD, Hook EW III, Soge OO, et al. Trends in *Neisseria gonorrhoeae* susceptibility to cephalosporins in the United States, 2006-2014. *JAMA*. 2015;314(17):1869-1871.
77. Deguchi T, Yasuda M, Hatazaki K, et al. New clinical strain of *Neisseria gonorrhoeae* with decreased susceptibility to ceftriaxone, Japan. *Emerg Infect Dis*. 2016;22(1):142-144.
78. Kirkcaldy RD, Harvey A, Papp JR, et al. *Neisseria gonorrhoeae* antimicrobial susceptibility surveillance—the gonococcal isolate surveillance project, 27 sites, United States, 2014. *MMWR Surveill Summ*. 2016;65(7):1-19.
79. Kirkcaldy RD, Weinstock HS, Moore PC, et al. The efficacy and safety of gentamicin plus azithromycin and gemifloxacin plus azithromycin as treatment of uncomplicated gonorrhea. *Clin Infect Dis*. 2014;59(8):1083-1091.
80. Buono SA, Watson TD, Borenstein LA, Klausner JD, Pandori MW, Godwin HA. Stemming the tide of drug-resistant *Neisseria gonorrhoeae*: the need for an individualized approach to treatment. *J Antimicrob Chemother*. 2015;70(2):374-381.
81. Cui L, Iwamoto A, Lian JQ, et al. Novel mechanism of antibiotic resistance originating in vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006;50(2):428-438.
82. Limbago BM, Kallen AJ, Zhu W, Eggers P, McDougal LK, Albrecht VS. Report of the 13<sup>th</sup> vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* isolate from the United States. *J Clin Microbiol*. 2014;52(3):998-1002.
83. Liu C, Bayer A, Cosgrove SE, et al; Infectious Diseases Society of America. Clinical practice guidelines by the Infectious Diseases

- Society of America for the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in adults and children. *Clin Infect Dis*. 2011;52(3):e18-e55.84. Ling LL, Schneider T, Peoples AJ, et al. A new antibiotic kills pathogens without detectable resistance. *Nature*. 2015;517(7535):455-459.
85. Ashby M, Petkova A, Hilpert K. Cationic antimicrobial peptides as potential new therapeutic agents in neonates and children: a review. *Curr Opin Infect Dis*. 2014;27(3):258-267.
86. Fahnoe KC, Flanagan ME, Gibson G, Shanmugasundaram V, Che Y, Tomaras AP. Nontraditional antibacterial screening approaches for the identification of novel inhibitors of the glyoxylate shunt in gram-negative pathogens. *PLoS One*. 2012;7(12):e51732.
87. Peltola H. Worldwide *Haemophilus influenzae* type b disease at the beginning of the 21st century: global analysis of the disease burden 25 years after the use of the polysaccharide vaccine and a decade after the advent of conjugates. *Clin Microbiol Rev*. 2000;13(2):302-317.
88. Dagan R, Klugman KP. Impact of conjugate pneumococcal vaccines on antibiotic resistance. *Lancet Infect Dis*. 2008;8(12):785-795.
89. Fowler VG, Allen KB, Moreira ED, et al. Effect of an investigational vaccine for preventing *Staphylococcus aureus* infections after cardiothoracic surgery: a randomized trial. *JAMA*. 2013;309(13):1368-1378.
90. Bagnoli F, Bertholet S, Grandi G. Inferring reasons for the failure of *Staphylococcus aureus* vaccines in clinical trials. *Front Cell Infect Microbiol*. doi:10.3389/fcimb.2012.00016
91. Heilman C. Vaccines: an innovative approach to combating antimicrobial resistance. <http://www.healio.com/infectious-disease/vaccine-preventable-diseases/news/print/infectious-disease-news/%7B7090bb03-1b4c-43a2-9d80-66a72e3cfb7f%7D/vaccines-an-innovative-approach-to-combating-antimicrobial-resistance?page=1>. Published July 2015. Accessed January 12, 2016.
92. Pegu A, Asokan M, Wu L, et al. Activation and lysis of human CD4 cells latently infected with HIV-1. *Nat Commun*. doi:10.1038/ncomms9447
93. Hancock REW, Nijnik A, Philpott DJ. Modulating immunity as a therapy for bacterial infections. *Nat Rev Microbiol*. 2012;10(4):243-254.
94. Manges AR, Steiner TS, Wright AJ. Fecal microbiota transplantation for the intestinal decolonization of extensively antimicrobial-resistant opportunistic pathogens: a review. *Infect Dis*. 2016;48(8):587-592.
95. US Food and Drug Administration. Guidance for industry: early clinical trials with live biotherapeutic products: chemistry, manufacturing, and control information. <http://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/Guidance-ComplianceRegulatoryInformation/Guidances/General/UCM292704.pdf>. Published February 2012. Accessed June 16, 2016.
96. Dashiff A, Junka RA, Libera M, Kadouri DE. Predation of human pathogens by the predatory bacteria *Micavibrio aeruginosavorus* and *Bdellovibrio bacteriovorus*. *J Appl Microbiol*. 2011;110(2):431-444.
97. Slopek S, Weber-Dabrowska B, Dabrowski M, Kucharewicz-Krukowska A. Results of bacteriophage treatment of suppurative bacterial infections in the years 1981-1986. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 1987;35(5):569-583.
98. Wright A, Hawkins CH, Anggard EE, Harper DR. A controlled clinical trial of a therapeutic bacteriophage preparation in chronic otitis due to antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: a preliminary report of efficacy. *Clin Otolaryngol*. 2009;34(4):349-357.
99. ClinicalTrials.gov. Evaluation of phage therapy for the treatment of *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* wound infections in burned patients (PHAGOBURN). <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02116010?term=phagoburn&rank=1>. 2015. Accessed March 6, 2016.
100. Schuch R, Lee HM, Schneider BC, et al. Combination therapy with lysin CF-301 and antibiotic is superior to antibiotic alone for treating methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*-induced murine bacteremia. *J Infect Dis*. 2014;209(9):1469-1478.
101. Yosef I, Manor M, Kiro R, Qimron U. Temperate and lytic bacteriophages programmed to sensitize and kill antibiotic-resistant bacteria. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2015;112(23):7267-7272.
102. Zaas AK, Burke T, Chen M, et al. A host-based RT-PCR gene expression signature to identify acute respiratory viral infection. *Sci Transl Med*. 2013;5(203):203ra126.
103. Schuetz P, Muller B, Christ-Crain M, et al. Procalcitonin to initiate or discontinue antibiotics in acute respiratory tract infections. *Cochrane Database Syst Rev*. 2012;(9):CD007498.

